

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Timbal

2.1.1 Definisi Dan Karakteristik Timbal

Timbal atau *plumbum* (Pb) adalah suatu logam berat yang lunak dan berwarna abu-abu kebiruan dengan nomor atom 82; bobot atom 207,21; valensi 2-4 yang titik leleh 3.27°C dan titik didih 16.200°C serta tidak berbau dan tidak berasa (Badan Standarisasi Nasional, 2009; Reffiane, Muhammad, Budi, 2011).



(Temple, 2007)

Gambar 2.1
Logam Timbal (Pb)

Logam timbal secara alami dapat ditemukan di lapisan kerak bumi, namun jarang ditemukan secara alami sebagai logam. Hal ini biasanya ditemukan dikombinasikan dengan dua atau lebih unsur kimia lainnya untuk membentuk senyawa timbal yang disebut garam-garam timbal. Unsur logam timbal sendiri tidak larut dalam air, namun garam timbal bersifat larut air.

Walaupun timbal bersifat lunak, tapi sangat rapuh dan akan mengkerut pada saat pendinginan (Reffiane, Muhammad, Budi, 2011; Priyono, 2013).

Logam ini dikelompokkan sebagai logam berat karena merupakan zat pencemar yang berbahaya sekaligus jika terikat pada sebuah sel maka akan mengakibatkan proses transpor pada membran sel terhambat (Reffiane, Muhammad, Budi, 2011).

2.1.2 Sumber Pencemaran Timbal

Pencemaran timbal dapat bersumber dari :

- Gunung berapi
- Bahan bakar
- Asap kendaraan bermotor
- Pabrik industri terutama pertambangan
- Cat
- Kaleng
- Glasir keramik
- Pipa air
- Kosmetik
- Mainan anak
- Sampah elektronik, seperti baterai
- Tanah yang tercemar timbal
- Perairan yang tercemar timbal

- Makanan, meliputi : sayuran, buah-buahan dan bahan makanan lainnya yang terkontaminasi timbal
- Hewan ternak yang terpapar timbal di lingkungan (Suherni, 2010; Pamungkasari, 2013; Wahyuningsih, Maman & Gusti, 2015; Irma, 2016).

2.1.3 Batas Pencemaran Timbal Di Berbagai Bidang

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011 pada tahun 2009, batas maksimum kadar timbal dalam makanan adalah sebagai berikut :

Tabel 2.1 Batas Maksimum Timbal Dalam Makanan

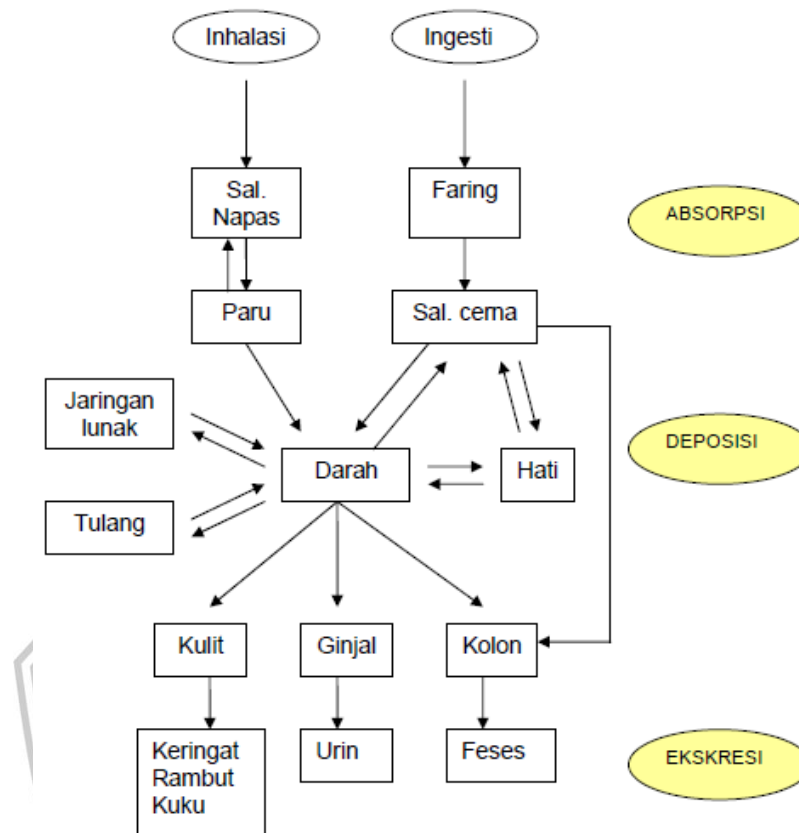
No.	Jenis Makanan	Batas Maksimum (ppm atau mg/kg)
1	Susu Olahan	0,02 (dihitung terhadap produk siap konsumsi)
2	Lemak dan minyak nabati	0,1
3	Lemak dan minyak hewani	0,1
4	Mentega	0,1
5	Margarin	0,1
6	Minarin	0,1
7	Buah olahan dan sayur olahan	0,5
8	Pasta tomat	1,0
9	Kembang gula/permen dan cokelat	1,0
10	Sereal dan produk sereal	0,3
11	Tepung terigu	1,0
12	Produk bakeri	0,5
13	Daging olahan	1,0
14	Ikan olahan	0,3
15	Ikan predator olahan misalnya cucut,tuna, marlin, dll	0,4
16	Kekerangan (<i>bivalve</i>) moluska olahan dan teripang olahan	1,5
17	Udang olahan dan krustasea olahan lainnya	0,5
18	Terasi	1,0
19	Madu	2,0
20	Garam	10,0
21	Rempah / Bumbu	7,0
22	Kecap	1,0

No.	Jenis Makanan	Batas Maksimum (ppm atau mg/kg)
23	Ragi	5,0
24	Saus	1,0
25	Susu formula bayi	0,02 (dihitung terhadap produk siap konsumsi)
26	Susu formula lanjutan	0,02 (dihitung terhadap produk siap konsumsi)
27	MP-ASI siap santap	0,3
28	MP-ASI biskuit	0,3
29	MP-ASI siap masak	1,14
30	MP-ASI bubuk instan	1,14
31	Air mineral alami	0,01 mg/l
32	Air minum dalam kemasan	0,005 mg/l
33	Sari buah dan nektar buah	0,2
34	Sari buah konsentrat	1,0
35	Sirup	1,0
36	Minuman ringan	0,2
37	Minuman bubuk	1,0
38	Minuman beralkohol	0,2
39	Kopi bubuk	2,0
40	Teh	2,0
41	Pangan olahan lainnya	0,25

(Badan Standarisasi Nasional, 2009)

Batas maksimum cemaran logam berat timbal dalam produk pangan selain tabel diatas adalah sebesar 0,25 mg/kg (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Kemudian Kepmen-LH no 51 tahun 2004 batas timbal di perairan yaitu $\leq 0,008 \mu\text{g/ml}$ (Wahyuningsih, Maman & Gusti, 2015). Batas maksimal timbal dalam tanah yaitu 100 ppm (Fitrillisia, Tengku & Sugianto, 2013). Nilai ambang batas Pb di udara yang ditetapkan oleh SK Gubernur Jawa Tengah No. 8 Tahun 2001 adalah $2 \mu\text{g/m}^3$. Namun WHO merekomendasikan tidak ada batas aman kandungan timbal, karena harus ditekan sampai titik nol (Fachruli, Mifbakhudin & Wulandari, 2013).

2.1.4 Metabolisme Dan Toksisitas Timbal Terhadap Tubuh



(Suciani, 2007)

Gambar 2.2
Metabolisme Timbal Dalam Tubuh

Metabolisme timbal dalam tubuh meliputi proses absorpsi, deposisi (distribusi dan akumulasi), serta ekskresi. Proses masuknya timbal ke dalam tubuh dapat melalui beberapa jalur, yaitu melalui makanan dan minuman, udara (pernafasan/inhalasi) serta perembesan atau penetrasi pada selaput atau lapisan kulit. Sebagian besar dari timbal yang terhirup pada saat bernafas akan masuk ke dalam pembuluh darah paru-paru yang kemudian diedarkan ke seluruh jaringan dan organ tubuh. Absorpsi melalui saluran cerna dipengaruhi oleh daya

larut, bentuk dan ukuran partikel, status gizi dan tipe diet. Pada orang dewasa sekitar 10% dari cemaran timbal yang masuk melalui saluran cerna akan diabsorpsi oleh tubuh, pada bayi dan anak absorpsi dapat mencapai 50% (Suciani, 2007).

Timbal yang diabsorpsi dari saluran pernapasan, pencernaan atau kulit akan diangkut oleh darah ke organ-organ lain. Distribusinya dapat dibagi menjadi dua yaitu : jaringan keras (tulang, rambut, kuku dan gigi); dan jaringan lunak (sumsum tulang, sistem saraf, paru-paru, otak, otot jantung, limpa, ginjal, hati). Diperkirakan bahwa hanya timbal dalam jaringan lunak saja yang toksik secara langsung, sedangkan timbal di jaringan keras tetap terikat erat pada jaringan dan baru bersifat toksik jika bertindak sebagai sumber timbal jaringan lunak (Suciani, 2007).

Timbal diekskresi melalui beberapa cara, yaitu melalui urin (75-80%), feses (sekitar 15%), keringat dan air susu ibu. Waktu paruh timbal dalam darah kurang lebih 36 hari, pada jaringan lunak 40 hari, sedangkan pada tulang lebih dari 25 tahun. Pada umumnya ekskresi timbal berjalan lambat, ini menyebabkan timbal mudah terakumulasi dalam tubuh (Suciani, 2007).

Ditetapkan menurut CDC (1997) kadar level timbal maksimal dalam darah adalah dibawah dari 10 $\mu\text{L/dL}$. Kadar timbal dalam darah yang telah melebihi 10 $\mu\text{L/dL}$ terindikasi adanya kemungkinan keracunan timbal, dimana hal tersebut merupakan kondisi kesehatan yang serius dan perlu penanganan lebih lanjut (Laila & Shofwati, 2013). WHO merekomendasikan tidak ada batas

aman kandungan timbal, karena harus ditekan sampai titik nol (Fachruli, Mifbakhudin & Wulandari, 2013).

Efek sifat logam timbal yang toksik terakumulasi dalam tubuh manusia dapat dibedakan berdasarkan organ yang dipengaruhi (Sudarmaji *et al.*, 2006), yaitu :

1. Sistem saraf : Timbal menyebabkan menurunnya perhatian dan fungsi memori, *encephalopathy*, ataxia, stupor, koma, gangguan psikomotor, gangguan intelegensi, dan perubahan kepribadian. Pada anak-anak dapat menimbulkan kejang tubuh dan *neuropathy* perifer serta penurunan IQ.
2. Sistem ginjal : Timbal menyebabkan tidak berfungsinya tubulus renal, degenerasi lumen tubulus, atrofi tubulus, nefropati *irreversible*, sklerosis vaskuler, fibrosis dan sklerosis glomerulus. Akibatnya menimbulkan aminosiduria dan glukosuria. Jika paparan berlanjut dapat menjadi nefritis kronis.
3. Sistem reproduksi : keguguran, kematian janin, cacat kromosom.
4. Sistem hemopoeitik : Timbal menghambat sistem pembentukan hemoglobin sehingga menyebabkan anemia.

2.1.5 Efek Timbal Pada Organ Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Dalam penelitiannya Shubina & Natalia (2016) meneliti pengaruh timbal terhadap proses spermatogenesis pada tikus putih jantan, dalam penelitian ini menggunakan timbal asetat peroral selama 7 hari dengan dosis 45 mg/kg/hari

memberikan beberapa pengaruh yaitu mengurangi produksi sel spermatogenik terutama bentuk mature, spermatid dan spermatozoa. mengurangi jumlah stem sel, mengubah bentuk spermatozoa, mengurangi index spermatogenesis, penurunan sel spermatozoa.

Penelitian Acharya (2003) yang berjudul *Lead Acetate Induced Cytotoxicity in Male Germinal Cells of Swiss Mice* menggunakan 24 ekor tikus, dibagi ke dalam dua grup di suntik dengan larutan timbal asetat dengan dosis selama 4 minggu yang di teliti setiap minggu nya, untuk komponen yang di teliti yaitu *sperm abnormality*, *lipid peroxidation potential*, *ascorbic acid content*, *testes weight* dan *sperm count*. Hasil penelitian nya menunjukkan hasil yang signifikan.

Sharma dan Garu (2011), melaporkan penelitiannya menunjukkan bahwa paparan timah hitam terutama berpengaruh terhadap testis, kemudian berpengaruh kepada menekan aksis hypothalamus-hipofisa-testis, sehingga mengakibatkan histologi testis, morfologi spermatozoa dan hubungan berbagai sel didalam testis terganggu. Perkawinan jantan yang dipapar timbal dengan betina yang tidak dipapar menunjukkan penurunan fertilitas pada jantan yang terpapar.

2.2 Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

2.2.1 Taksonomi meniran



(BPOM RI, 2008)

Gambar 2.3
Tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

Berdasarkan BPOM RI (2008), meniran secara ilmiah memiliki.

klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Sub kelas : *Rosidae*

Ordo : *Euphorbiales*

Suku : *Euphorbiaceae*

Genus : *Phyllanthus*

Spesies : *Phyllanthus niruri* L.

2.2.2 Karakteristik dan Morfologi Meniran

Meniran memiliki karakteristik dan morfologi sebagai berikut (Handayani & Nurfadillah, 2016) :

Tumbuhan ini memiliki tinggi ± 38 cm, tidak berbulu, tangkainya berwarna hijau, tumbuh liar di tempat-tempat yang lembab, di sepanjang jalan dan di antara rerumputan dalam jumlah yang banyak.

Karakteristik daun (*Folium*) tunggal, berbentuk jorong (*ovalis*), ujung (*apex*) tumpul (*obtusus*), pangkal (*basis*) membulat (*rotundatus*), susunan tulangnya bertulang menyirip (*penninervis*), tepi (*margo*) rata (*integer*), permukaan daun licin (*laevis*), panjang ± 9 mm dan lebar ± 4 mm, berwarna hijau muda.

Karakteristik batang (*Caulis*) basah, berbentuk bulat (*teres*), permukaan batang licin (*laevis*), arah tumbuh batang tegak lurus (*erectus*), cara percabangan monopodial, berwarna hijau muda, tinggi 24 cm.

Karakteristik akar (*Radix*) termasuk sistem perakaran tunggang, bercabang, berwarna putih kekuningan.

2.2.3 Kandungan Meniran

Pada meniran mengandung berbagai banyak senyawa seperti lignan, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, asam lemak, vitamin C, kalium, tanin, geraniin, filantin, dan hipofilantin (Nuryanti, Said, & Winarti, 2014).

Sebuah tesis oleh Murugaiyah, 2008 mengidentifikasi beberapa konstituen meniran sebagai berikut :

1) Lignan

Lignan yang diisolasi dari meniran terdiri dari dua grup yaitu *1,4-diarylbutane* dan *1-aryltetralin* serta *neolignan* dan beberapa lignan lainnya.

2) Coumarin, tanin, dan polifenol yang berhubungan

Golongan coumarin, tanin dan polifenol yang telah diisolasi dari tanaman ini yaitu *gallic acid*, *ellagic acid*, *brevifolin carboxylic acid*, *ethyl brevifolincarboxylate*, *methyl brevifolin carboxylate*, *geraniin*, *corilagin*, *phyllanthusiin D*, *amariin*, *amariinic acid*, *elaecarpusin*, *geraniinic acid B*, *catechin*, *epicatechin*, *gallo-catechin*, *epigallocatechin*, *epicatechin 3-Ogallate*, *epigallo-catechin 3-Ogallate*.

3) Flavonoid

Flavonoid yang diisolasi dari tanaman meniran ini adalah *quercetin*, *rutin*, *astragalin*, *quercitrin*, *isoquercitrin*, *kaempferol-4'-rhamnopyranoside*, *eridictyol-7-rhamno pyranoside*, *fisetin-4'-O-glucoside*, *quercetin-3-O-glucopyranoside*, *kaempferol-3-O-rutinoside*.

Pada penelitian lainnya yang dilakukan unit laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana didapatkan hasil kandungan meniran sebagai berikut :

Tabel 2.2 Kandungan Zat Meniran

No.	Kandungan	Nilai Kuantitas (mg/100g)
1.	Flavonoid	677,27
2.	Fenol	1972,21
3.	Tanin	14045,48
4.	Vitamin C	9506,69

(Aman, Pangkahila, & Siahaan, 2017)

2.2.3.1 Tanin dalam Meniran

Tanin merupakan senyawa fenol yang mempunyai berat molekul besar terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus bersangkutan seperti karboksil sehingga membentuk kompleks kuat yang efektif dengan beberapa molekul (Anuar *et al*, 2010).

Tanin yang masuk ke tubuh dan ikut beredar dalam darah dapat menetralkan racun dari senyawa logam disebabkan tanin memiliki fungsi sebagai *chelating agent* (pengkelat logam) yang mempunyai cara kerja sama seperti adsorpsi pada adsorben. Aktivitas pengkelat logam ini dapat membuat senyawa reaktif pada logam menjadi aman dan stabil bagi tubuh sehingga endapan logam tidak dapat diserap usus dan langsung dibuang. Tetapi tanin yang berlebihan dapat menyebabkan pengkonsumsinya menjadi anemia disebabkan banyak zat besi yang tidak dapat diserap tubuh (Hanani, Santcarwati, & Setiani, 2016).

Tanin terbagi menjadi dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis (Ellagitanin) dan tanin terkondensasi (Flavonoid). Tanin terhidrolisis terdiri dari 3

komponen besar yaitu asam galat, corilagin, dan asam ellagic (Anuar *et al*, 2010).

Pada penelitian Daud, Hasan & Markom, 2010 ditemukan jumlah kuantitatif asam galat sebesar 2,87 %g/g ekstrak, corilagin 5,54 %g/g ekstrak dan asam ellagic 17,21 %g/g ekstrak dengan metode *pressurized water extraction* (PWE) di 100 bar dengan ekstraksi statis selama 3 jam.

2.2.3.2 Vitamin C dalam Meniran

Vitamin C atau L-asam ascorbat merupakan vitamin yang larut air. Vitamin C ini memiliki formula ($C_6H_8O_6$) dan berat molekul sebesar 176.13, dalam bentuk murni vitamin C berbentuk kristal putih yang mudah teroksidasi (Muhammad, 2009).

Vitamin C disebut sebagai antioksidan karena dengan elektron yang didonorkan itu dapat mencegah terbentuknya senyawa lain dari proses oksidasi dengan melepaskan satu rantai karbon. Namun, setelah memberikan elektron pada radikal bebas, vitamin C akan teroksidasi menjadi *semidehydroascorbic acid* atau radikal *ascorbyl* yang relatif stabil. Radikal *ascorbyl* tidak dapat bertahan lama dan akan berubah menjadi *dehydroascorbic acid*. Vitamin C dalam bentuk radikal *ascorbyl* dan *dehydroascorbic acid* bertindak sebagai penetral dari berbagai jenis oksidan termasuk oksigen, superoksida, radikal hidroksil, hipoklorus, reaktif nitrogen spesies, logam besi dan tembaga (Muhammad, 2009).

Selain itu, kegunaan vitamin C untuk pembentukan darah adalah membantu mereduksi besi Ferri (Fe^{3+}) menjadi Ferro (Fe^{2+}) pada usus halus

sehingga dapat mudah diabsorpsi dalam usus halus serta membantu memindahkan zat besi dari transferrin didalam plasma ke feritin hati. Di dalam pembentukan sel darah merah dan hemoglobin, sumsum tulang memerlukan prekursor seperti zat besi, vitamin C, vitamin B12, kobalt dan hormon. Vitamin C juga memiliki kemampuan menghambat pembentukan hemosiderin yang sulit dimobilisasi saat tubuh kekurangan besi (Sabri, Sembiring, & Tanjung, 2012). Pada penelitian, kandungan vitamin C pada meniran bernilai 9506,69 mg/100gr (Aman, Pangkahila, & Siahaan, 2017).

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Oksidasi merupakan proses pelepasan elektron dari suatu senyawa. Sedangkan reduksi adalah proses penangkapan elektron. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor. (Sayuti & Yenrina, 2015).

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa oksigen reaktif, yang mengandung komponen elektron yang tidak berpasangan dan tidak stabil. Contoh radikal bebas adalah Superoksidaradikal (O_2^-), Hidrogen Peroxida (H_2O_2), Hydroxyl Radikal (OH), dan Singlet Oxygen (O_2^-) yang merupakan spesies oksigen yang reaktif (*Reactive Oxygen Species*) atau ROS . (Sayuti & Yenrina, 2015).

Tabel 2.3 *Reactive Oxygen Species* (ROS)

No	<i>Radicals</i>	
1	O_2^* <i>superoxide</i>	H_2O_2 <i>hydrogen peroxide</i>
2	HO^* <i>hydroxyl radical</i>	1O_2 <i>singlet oxygen</i>
3	HO_2 <i>hydroperoxyl radical</i>	$LOOH$ <i>lipid hydroperoxide</i>
4	LO_2^* <i>Lipid peroxyl radical</i>	$Fe=O$ <i>iron-oxygen complexes</i>
5	LO^* <i>Lipid alkoxyl radical</i>	$HOCl$ <i>hypochlorite</i>
6	NO_2 <i>nitrogen dioxide</i>	
7	NO^* <i>nitric oxide</i>	

(Sayuti & Yenrina, 2015)

2.3.2 Sifat Radikal Bebas

- Reaktivitas tinggi sehingga dapat menarik elektron dari molekul atau atom lain.
- Dapat membentuk radikal baru melalui pengambilan atau penambahan satu elektron pada molekul yang stabil (Werdhasari, 2014).

2.3.3 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas berasal dari sumber-sumber sebagai berikut :

- Endogen

Sumber radikal bebas endogen (dari dalam tubuh) antara lain :

- Autoksidasi

Autoksidasi adalah produk dari proses metabolisme aerob. Jenis molekulnya berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, serta thiol. Dari autoksidasi dihasilkan kelompok oksigen reaktif (Sayuti & Yenrina, 2015).

2. *Respiratory burst*

Proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar pada proses fagositosis. Sekitar 70-90% penggunaan oksigen tersebut berperan dalam produksi superoksida yang merupakan bentukan awal dari radikal bebas (Sayuti & Yenrina, 2015).

3. Oksidasi enzimatik

Terdapat beberapa jenis enzim yang dapat menghasilkan radikal bebas seperti: *xanthine oksidase*, *lipoxxygenase*, *amino acid oxidase*, *aldehid oxidase*, dan *prostaglandin synthase* (Sayuti & Yenrina, 2015).

b. Eksogen

Sumber radikal bebas eksogen (dari luar tubuh) antara lain :

1. Radiasi

Penggunaan radioterapi memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radiasi dibagi menjadi radiasi elektromagnetik dan radiasi partikel. Radiasi elektromagnetik berupa sinar X dan sinar gamma, sedangkan radiasi partikel seperti partikel elektron, foton, neutron, alfa, dan beta (Sayuti & Yenrina, 2015).

2. Obat-obatan

Obat-obatan berperan dalam peningkatan produksi radikal bebas dengan cara meningkatkan tekanan oksigen. Jenis obat-obatan tersebut dapat berupa obat golongan antibiotik quinoid, obat kanker, dan asam

askorbat yang berlebih sehingga dapat mempercepat peroksidasi lipid (Sayuti & Yenrina, 2015).

3. Logam berat

Logam berat seperti Pb, Cd, Hg, Fe, As, dan lain-lain (Pham-Huy *et al*, 2008).

2.3.4 Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan radikal bebas dibagi menjadi tiga tahap, sebagai berikut:

a. Inisiasi

Tahapan dalam pembentukan radikal bebas

b. Propogasi

Tahap pemanjangan rantai radikal

c. Terminasi

Tahap bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau dengan penangkapan radikal, sehingga potensi propagasinya rendah (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.3.5 Target Kerusakan Oleh Radikal Bebas

Terdapat tiga macam target kerusakan oleh radikal bebas, antara lain:

a. DNA dan RNA

Kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada delesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal bebas merusak DNA dan RNA dengan memutus cincin

deoksiribosa, menyebabkan kerusakan basa, mutasi, kesalahan translasi, dan menghambat sintesis protein (Yunanto, Bambang & Eko, 2009; Sayuti & Yenrina, 2015).

b. Protein

Protein lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acids*), sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi jika radikal tersebut mampu berakumulasi atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein (Sayuti & Yenrina, 2015).

c. Lipid

Radikal bebas menyebabkan lipid kehilangan ketidakjenuhan, membentuk metabolit reaktif yang mengubah fluiditas, permeabilitas membran, dan mempengaruhi enzim yang terikat membran. Lipid tak jenuh adalah target yang paling rentan karena mengandung banyak ikatan rangkap (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron yang dapat mencegah terjadinya radikal maupun mengikatnya sehingga mampu memperlambat hingga menghentikan reaksi oksidasi (Werdhasari, 2014).

2.4.2 Jenis-Jenis Antioksidan

Antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, sebagai berikut :

a. Antioksidan Endogen (Primer)

Antioksidan enzimatis yang berperan dalam mencegah pembentukan radikal bebas yang baru. Aktivitas antioksidan primer bergantung pada keberadaan ion logam, termasuk di dalamnya adalah aktivitas SOD, glutathione maupun katalase. Aktivitas SOD bergantung pada logam Fe, Cu, Zn, dan Mn. Aktivitas glutathione bergantung pada ion logam Se. Aktivitas katalase bergantung pada ion logam Fe (Sayuti & Yenrina, 2015).

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan non-enzimatik yang berperan dalam penangkapan senyawa radikal bebas, perbaikan kerusakan akibat radikal bebas, dan pencegahan terjadinya reaksi rantai. Antioksidan sekunder meliputi vitamin A,C,E, β -karoten, albumin, bilirubin, flavonoid, dan seruloplasmin (Yunanto, Bambang & Eko, 2009)

2.5 Testis

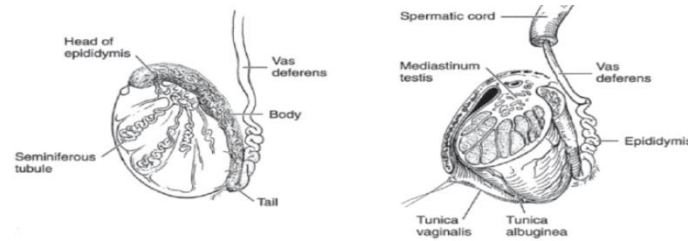
2.5.1 Anatomi dan Histologi Testis

Testis adalah organ reproduksi primer pada pria. Organ ini berbentuk ovoid yang berperan sebagai organ reproduksi dan kelenjar endokrin. Testis terdapat di dalam sebuah kantong yaitu kavum skroti oleh jaringan skrotum yang terdiri dari: kulit, tunika dartos, *fascia spermatica externa*, otot *cremaster*,

dan *fascia spermatica interna*. Letak testis kiri pada umumnya lebih rendah dibanding dengan testis kanan. Permukaan testis bagian anterior, medial, dan lateral dilapisi oleh jaringan skrotum, tunika vaginalis lamina parietalis, lamina visceralis, sedangkan permukaan posterior hanya dilapisi sebagian serosa (Gray, 2008).

Testis masuk ke dalam kavum skrotum melalui proses *descensus testiculorum*. Pada waktu awal kehidupan fetal, terdapat suatu jaringan yang disebut sebagai *gubernaculum testis*. *Gubernaculum testis* ini berikatan pada tiga tempat, yaitu: testis, bagian peritoneum, dan duktus Wolfii yang akan berkembang menjadi epididimis dan duktus deferens. Semua itu akan tertarik menuju ke skrotum, sehingga bagian peritoneum ini akan membentuk suatu tabung yang disebut *processus vaginalis peritonei*. Testis akan melekat pada bagian terluar tabung ini, dan tertarik menuju ke skrotum. Bagian atas dari tabung ini akan mengalami obliterasi, sedangkan bagian bawah yang menempel pada testis akan mengalami invaginasi dan membentuk tunika vaginalis. Pada umur tujuh bulan kehamilan testis sudah berada pada kanalis inguinalis, dan berada pada dasar skrotum setelah lahir (Basmajian *et al*, 2010). Testis memiliki tiga lapisan dari bagian luar hingga dalam, yaitu tunika vaginalis, tunika albuginea, dan tunika vaskulosa. Tunika albuginea adalah lapisan jaringan ikat yang tebal dan membagi testis menjadi lobulus-lobulus kecil. Pada bagian posterior jaringan ikat ini akan menebal dan membentuk mediastinum testis. Mediastinum testis adalah tempat masuk pembuluh darah, pembuluh limfatik, saraf, dan rete testis. Rete testis merupakan tempat muara dari tiap

lobulus testis yang nantinya akan dibawa menuju ke epididimis melalui duktus efferen untuk keluar dari testis (Liu *et al*, 2004).



(Konety & Carroll, 2013)

Gambar 2.4
Anatomi Testis, duktus efferen, epididimis dan duktus deferens

2.5.2 Tubulus Seminiferus

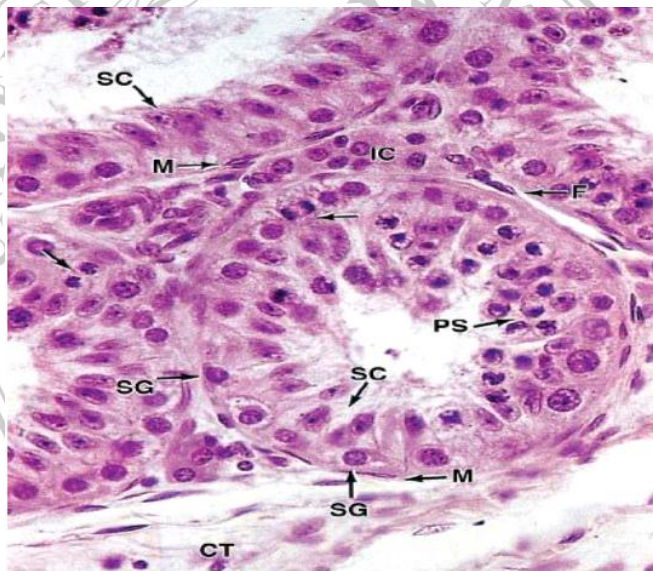
Tubulus seminiferus merupakan komponenen fungsional utama dari testis. Tiap testis memiliki 250-1000 tubulus seminiferus di dalam lobulus. Setiap tubulus seminiferus di dalam testis memiliki epitel germinal (seminiferus) yang mengandung beberapa tahap perkembangan sel-sel spermatogenik dan sel penyokongnya yaitu sel sustentakuler Sertoli. Epitel germinal ini juga diperkuat oleh membran basal yang terdiri atas jaringan ikat dan elastis dan lamina propria yang tipis (Junquiera & Carneiro J, 2013).

Epitel germinal pada tubulus seminiferus akan terbagi menjadi dua kompartemen, yaitu kompartemen basal dan adluminal. Terbaginya epitel germinal pada tubulus seminiferus terjadi pada masa pubertas, yang dikarenakan pembentukan *blood testis barrier* oleh sel Sertoli dengan membentuk *tight junctions* (*zonulae occludentes*) antar sel. Kompartemen basal akan ditempati oleh spermatogonia dan spermatosit primer stadium preleptoten,

sedangkan kompartemen adluminal akan ditempati oleh stadium perkembangan selanjutnya (Junquiera & Carneiro J, 2013).

2.5.3 Sel *Leydig*

Sel *Leydig* adalah sel yang terletak pada pars interstitial dekat dengan kapiler dan di antara tubulus seminiferus. Sel yang memiliki bentuk nukleus bulat dan sitoplasma pucat dengan vakuola lemak ini berasal dari derivat mesoderm. Sel ini memiliki retikulum endoplasma halus yang dominan pada sitoplasmanya. Retikulum endoplasma halus ini berkontribusi mensekresi hormon testosteron (Liu *et al*, 2004).



(Junquiera & Carneiro J, 2013).

Gambar 2.5

Gambaran histologi testis: Jaringan ikat (CT), sel interstitial Leydig (IC), sel myoid (M), fibroblas (F), sel spermatogonia (SG), sel spermatosit primer (SP), dan sel penyokongnya yaitu sel sustentakuler Sertoli (SC).

Pembesaran 400x dengan pewarnaan HE

2.5.4 Sel Sertoli

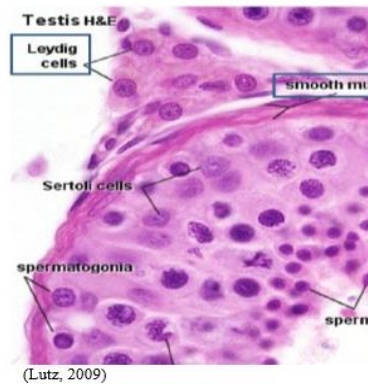
Sel Sertoli adalah salah satu sel somatik pada tubulus seminiferus yang memiliki bentuk kolumnar ireguler dan nukleus ovoid pucat. Sel ini terletak di membran basal dan membentuk *blood testis barrier* selain untuk membagi epitel germinal tubulus seminiferus, juga sebagai pelindung sel-sel spermatogenik dari reaksi autoimun. Fungsi utama dari sel Sertoli adalah mengontrol hormon, nutrisi untuk perkembangan sel spermatogenik berupa fruktosa, dan fagositosis badan residual serta sel germinal yang mengalami degenerasi (Junquiera & Carneiro J, 2013).

Sel somatik ini berperan penting pada masa embriologi pembentukan alat reproduksi pria dengan mensekresikan AMH, sehingga mencegah berkembangnya duktus Mulleri. Selain itu, sel Sertoli juga mengeluarkan *androgen binding protein* (ABP) untuk menjaga kadar testosteron dalam tubulus seminiferus. Hubungan sel Sertoli dengan aksis hipotalamus-hipofisis adalah melalui produksi hormon inhibin dan aktivin yang memiliki fungsi sebagai *feedback* negatif dan positif pada hipotalamus, sehingga dapat mengatur sekresi *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) oleh hipofisis anterior (Tanagho & McAninch, 2008). Spermatogonium adalah sel sperma, yang terletak di samping lamina basalis. Sel spermatogonium relatif kecil dan intinya mengandung kromatin pucat. Pada keadaan kematangan kelamin, sel ini mengalami sederetan mitosis lalu terbentuklah sel induk atau spermatogonium tipe A, dan mereka berdiferensiasi selama siklus mitotik yang progresif menjadi spermatogonium

tipe B. Spermatogonium tipe A adalah sel induk untuk garis keturunan spermatogenik, sementara spermatogonium tipe B merupakan sel progenitor yang berdiferensiasi menjadi spermatosit primer (Junquiera & Carneiro J, 2013).

Spermatosit primer adalah sel terbesar dalam garis turunan spermatogenik dan ditandai adanya kromosom dalam tahap proses penggelungan yang berbeda di dalam intinya. Spermatosit primer memiliki 46 ($44+XY$) kromosom dan $4N$ DNA. Spermatosit sekunder sulit diamati dalam sediaan testis karena merupakan sel berumur pendek yang berada dalam fase interfase yang sangat singkat dan dengan cepat memasuki pembelahan kedua (Junquiera & Carneiro J, 2013).

Spermatosit sekunder memiliki 23 kromosom ($22+X$ atau $22+Y$) dengan pengurangan DNA per sel (dari $4N$ menjadi $2N$). Pembelahan spermatosit sekunder menghasilkan spermatid. Spermatid memiliki inti dengan daerah-daerah kromatin padat dan lokasi jukstaluminal di dalam tubulus seminiferus. Spermatid mengandung 23 kromosom. Karena tidak ada fase S (sintesis DNA) yang terjadi antara pembelahan meiosis pertama dan kedua dari spermatosit, maka jumlah DNA per sel dikurangi setengahnya selama pembelahan kedua ini menghasilkan sel-sel haploid ($1N$) (Junquiera & Carneiro J, 2013).



Gambar 2.6
Gambaran Histologi Testis (Sel Leydig, Sel Sertoli,
dan spermatogonia).
Pembesaran 400x dengan pewarnaan HE

2.5.5 Fisiologi Testis

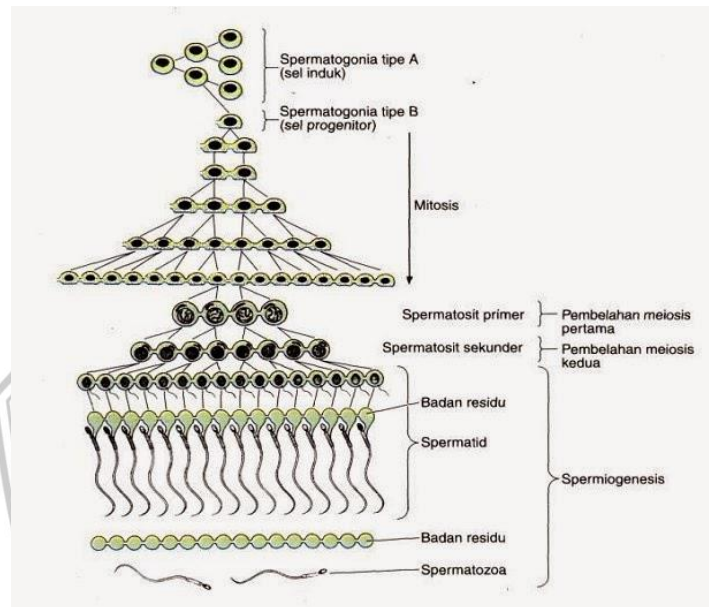
Testis memiliki peranan yang penting pada sistem reproduksi pria, yaitu sebagai organ reproduksi dan kelenjar endokrin (Ganong, 2015). Spermatogenesis adalah proses pembelahan untuk menghasilkan spermatozoa yang terjadi pada testis dalam menjalankan perannya sebagai organ reproduksi. Proses ini dimulai dari pembelahan dan diakhiri dengan pembentukan spermatozoa matur. Spermatogenesis memiliki empat tahap utama, yaitu: mitosis (spermatogoniogenesis), meiosis, spermiogenesis, dan spermiasi (Weinbauer *et al*, 2010). Waktu yang diperlukan untuk spermatogenesis adalah 74 hari. (Guyton & Hall, 2008).

Spermatogenesis dimulai dari tahap proliferasi dan diferensiasi spermatogonia. Spermatogonia adalah sel benih primitif yang terletak pada membran basalis tubulus seminiferus. Sel ini memiliki dua tipe, yaitu tipe A dan tipe B. Spermatogonia tipe B berkembang dari tipe A. Proses ini berlangsung dengan satu spermatogonia tipe B menyebrang *blood testis barrier* dan melanjut

sebagai satu spermatosit primer yang memiliki 46 kromosom ($44+XY$) dan DNA mengandung $4N$ (tetraploid) melalui proses mitosis (Weinbauer *et al*, 2010).

Terbentuknya spermatosit primer merupakan awal dari fase meiosis. Satu spermatosit primer akan mengalami meiosis I dan menjadi dua spermatosit sekunder yang memiliki 23 kromosom ($23+X$, $23+Y$) dan tiap sel memiliki dua kromatid jadi jumlah DNA $2N$ (diploid). Spermatosit sekunder ini sangat cepat masuk pada fase meiosis II, sehingga sel ini sukar untuk diteliti (Tanagho & McAninch, 2008). Hasil dari meiosis II adalah empat spermatid. Karena antara meiosis I dan II tidak terdapat fase S (replikasi DNA), sehingga jumlah DNA berkurang menjadi setengah ketika kromatid memisah dan jumlah DNA $1N$ (haploid). Spermatid berdasarkan bentuk nukleusnya diklasifikasikan menjadi spermatid awal, pertengahan, dan akhir. Spermatid akhir ini yang akan mengalami kondensasi dan perubahan nukleus, pembentukan flagel, serta pelepasan sebagian besar sitoplasma melalui proses spermiogenesis. Tahapan pertama dari proses morfologik ini adalah fase golgi, terkumpulnya granula badan golgi spermatid membentuk granula akrosom yang berada di vesikula akrosom. Selama fase akrosom, vesikula akrosom akan menutupi setengah bagian anterior nukleus spermatid yang memadat disebut akrosom. Akrosom mengandung beberapa enzim hidrolitik, seperti hialuronidase, neuraminidase, fosfatase asam, dan protease yang memiliki aktivitas seperti tripsin. Enzim-enzim inilah yang memudahkan sperma menembus *corona radiata* dan zona pelusida sel ovum. Pada fase ini membran plasma menuju ke posterior nukleus menutupi

flagel dan mitokondria beragregasi membentuk suatu selubung pada bagian proximal dari flagel. Fase maturasi ditandai dengan pelepasan sisa sitoplasma spermatid menjadi badan residual yang akan difagositosis oleh sel Sertoli (Junquiera & Carneiro J, 2013). Fase akhir spermatogenesis adalah spermiasi, yaitu pelepasan spermatozoa dari epitel tubulus seminiferus (Liu *et al*, 2004).



(Junquiera & Carneiro J, 2013)

Gambar 2.7
Skema spermatogenesis

Spermatogonia tipe A bertindak sebagai sel induk dan akan membelah membentuk sel induk baru dan spermatogonia tipe A lainnya yang merupakan progenitor dari spermatosit. Pembelahan ini menyisakan sitoplasma yang menyatu antar sel (*intercellular bridge*). Spermatosit tipe A membelah secara mitosis dua atau tiga kali, dan pada akhir mitosis membentuk spermatogonia tipe B yang akan menjadi spermatosit primer melalui proses meiosis I. Dari

spermatisit primer akan menjadi spermatisit sekunder melalui proses meiosis II. *Intercellular bridge* ini hilang pada saat spermatid menjadi spermatozoa melalui proses spermiogenesis. Sisa sitoplasma spermatid akan menjadi badan residual yang akan difagositosis sel Sertoli (Junquiera & Carneiro, 2013).

2.5.6 Aksis Hipotalamus-Hipofisis Testis

Hipotalamus mengatur sistem reproduksi baik pria maupun wanita melalui sekresi *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH) (Ganong, 2015). Sekresi GnRH melalui portal hipotalamus-hipofisis akan menstimulasi sel gonadotrop hipofisis anterior memproduksi hormon gonadotropik, yaitu *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Sekresi GnRH oleh hipotalamus terjadi secara *pulsatile*, sehingga pelepasan hormon gonadotropik akan terjadi perbedaan kadar puncak. Sering kali hal tersebut terjadi pada hormon LH dibanding dengan FSH dikarenakan waktu yang lebih singkat pada sirkulasi. Sel gonadotrop adalah salah satu sel pada hipofisis anterior yang memiliki granula basofilik (Liu *et al*, 2004). Sel ini akan mensekresi FSH dan LH setelah adanya rangsangan dari GnRH dari hipotalamus. FSH dan LH mengandung dua rantai polipeptida, α dan β . FSH dan LH juga memiliki waktu paruh yang berbeda. LH memiliki waktu paruh pendek (20 menit) karena strukturnya kaya akan *N-acetyl-glucosamine sulfate* menyebabkan hormon ini mudah cepat dikeluarkan tubuh setelah bertemu reseptor di sel hepar yang mengenali sulfat. Sedangkan FSH akan

lebih lama (2 jam) berada pada sirkulasi, karena dominan *N-acetyl-glucosamine sialylated* sehingga terproteksi dari metabolisme hepar (Weinbauer *et al.*, 2010). Pada sistem reproduksi pria, target organ dari FSH dan LH adalah testis. Terdapat dua bangunan penting pada testis yang akan berikatan dengan hormon gonadotropik ini, yaitu sel Leydig yang terdapat pada interstitial dan sel Sertoli pada membran tubulus seminiferus. LH bersifat trofik terhadap sel Leydig. Sinyal transduksi dari hormon ini akan berikatan dengan reseptor spesifik yang terdapat pada sel Leydig dan beraktivasi dengan enzim adenil siklase, sehingga terjadi peningkatan tajam dari *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) sitoplasma. Peningkatan cAMP sitoplasma ini memulai sintesis dari testosteron. Testosteron yang dihasilkan akan menghambat sekresi LH secara langsung pada hipofisis anterior dan GnRH pada hipotalamus melalui umpan balik negatif (Ganong, 2015). FSH yang disekresi sel gonadotrop akan berikatan dengan reseptor spesifik dari sel Sertoli dan memicu produksi ABP. FSH penting dalam memulai proses spermatogenesis, tetapi proses maturasi sperma juga membutuhkan testosteron (Weinbauer *et al.*, 2010). Dengan adanya sekresi ABP, testosteron yang dihasilkan sel Leydig dapat diikat dan masuk ke dalam tubulus seminiferus untuk memulai spermatogenesis. FSH juga menstimulasi sel Sertoli untuk mensekresi inhibin A dan B. Berdasarkan teori inhibin B inilah yang memiliki peran utama dalam mekanisme umpan balik negatif terhadap sekresi FSH (Ganong, 2015).

2.6 Tikus Putih



(Nursyah, 2012)

Gambar 2.8
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Taksonomi tikus putih sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muroidae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Nursyah, 2012).

Hewan percobaan yang umum digunakan dalam penelitian ilmiah adalah tikus. Tikus (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian. Ciri-ciri morfologi *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm. Secara fisik, ukuran badan jantan biasanya lebih besar daripada betina. Tikus memiliki beberapa galur yang merupakan hasil persilangan sesama jenis. Galur yang sering digunakan untuk penelitian adalah galur *Wistar*, *Long-Evans* dan *Sprague-Dawley* (Nursyah, 2012).

Secara garis besar, data fisiologis tikus putih sebagai berikut :

Tabel 2.4 Data Fisiologis Tikus Putih

Kriteria	Nilai
Berat badan dewasa jantan	450 - 520 g
Berat badan dewasa betina	250 - 300 g
Berat lahir	5 - 6 g
Suhu tubuh	35,9 - 37,5 °C
Harapan hidup	2,5 - 3,5 tahun
Konsumsi makanan	10 g/100 g/hari
Konsumsi air minum	10 - 12 ml/100 g/hari
Detak Jantung	250 - 450/menit
Volume darah	54 - 70 ml/kg
Tekanan darah	84 - 134/60 mmHg
Protein Serum	5,6 - 7,6 g/dl
Albumin	3,8 - 4,8 g/dl
Globulin	1,8 - 3,0 g/dl
Glukosa serum	50 - 135 mg/dl
Nitrogen urea darah	15 - 21 mg/dl
Kreatinin	0,2 - 0,8 mg/dl
Total bilirubin	0,20 - 0,55 mg/dl
Lemak serum	70 - 415 mg/dl
Fosfolipid	36 - 130 mg/dl
Trigliserida	26 - 145 mg/dl
Kolesterol	40 - 130 mg/dl

(Nursyah, 2012)

Kemudian kapasitas volume lambung tikus dengan berat antara 200 – 300 gram yaitu berkisar pada 4 – 5 ml dengan waktu pengosongan sekitar 4 jam (Nebendahl, 2000; Adriansyah *et al*, 2014).

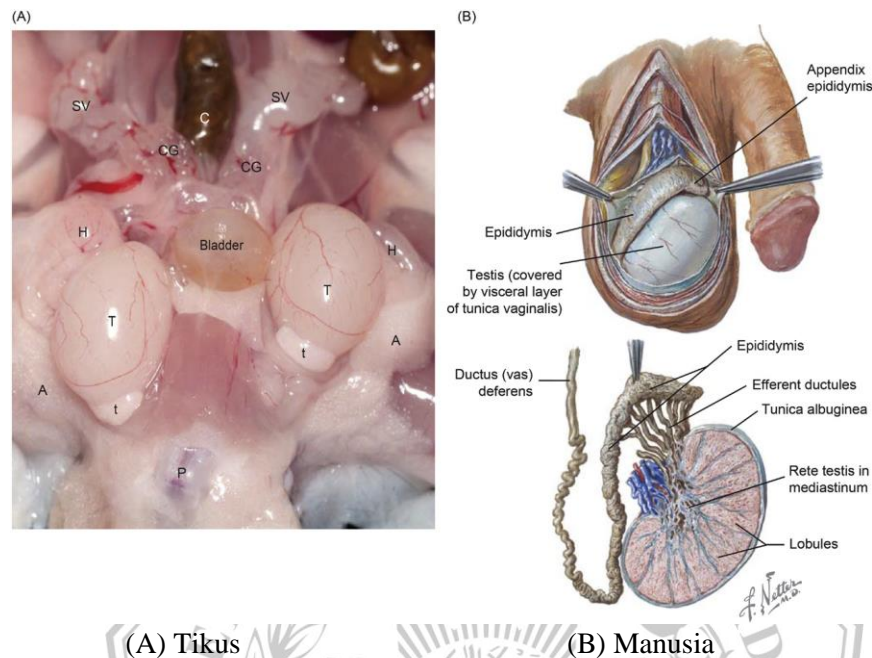
Tabel 2.5 Diameter Dan Volume Lambung Tikus Putih Berdasarkan Berat Badan

Body weight (g)	Diameter of bulb (mm)	Volume (mL)
30	1.0	1.0
50	1.0	2.0
100	1.5	3.0
200	2.0	4,0
300	2.0	5,0

(Nebendahl, 2000)

Hewan percobaan ini memiliki beberapa keunggulan yaitu penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, dan daya adaptasi yang baik. Selain itu fungsi dan bentuk organ, proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Sifat-sifat dari tikus yang sudah diketahui dengan sempurna inilah yang menjadikan tikus sering digunakan dalam penelitian (Nursyah, 2012).

2.6.1 Perbandingan Testis Tikus Dengan Testis Manusia



(A) Tikus
(Treuting et al, 2017)

(B) Manusia

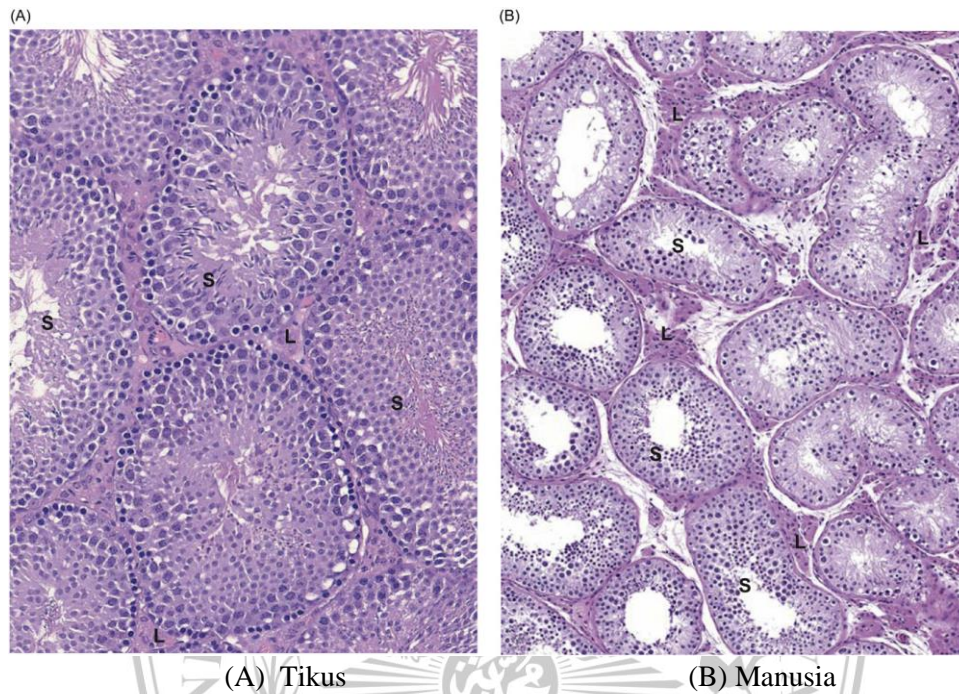
Gambar 2.9

Perbandingan Letak Testis Tikus Dengan Manusia

Testis (T), Epididimis (caput (H), cauda(t)), Jaringan Adiposa (A), Kelenjar Koagulasi (CG), Vesikula seminalis (SV), Penis (P), Colon (C).

Testis pada tikus dan manusia berjumlah sepasang kiri dan kanan. Pada tikus masing-masing testis memiliki berat rata-rata 1,7 gr dan ukuran 2,4 cm x 1.3 cm x 0,9 cm. Pada manusia rata-rata memiliki berat 21,6 gr kanan dan 20 gr kiri dengan kanan biasanya lebih berat 10%, ukuran testis manusia rata-rata 4,6 cm x 2.6 cm x 3cm. Baik tikus dan manusia memiliki testis terletak di skrotum, ditutupi oleh *fibrous capsule*, *tunica albuginea* dan lapisan ganda *mesothelium*. Pada testis tikus dapat berhubungan dengan rongga perut melalui *patent inguinal canals*, yang terbuka sepanjang hidup nya.

Berbeda dengan testis manusia *inguinal canals* akan tertutup setelah turun nya testis ke retroperitoneum ke dalam skrotum setelah lahir (Treuting et al, 2017).



(Treuting et al, 2017)

Gambar 2.10
Perbandingan Secara Histologis Testis Tikus Dengan Manusia
Tubulus seminiferous (S) dan sel interstitial atau Leydig (L)
Pembesaran 400x dengan pewarnaan HE